

⑯ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—35516

⑤ Int. Cl.³
A 61 K 31/70

識別記号
ADS
ADU

庁内整理番号
6675—4C
6675—4C
7252—4C

⑬ 公開 昭和57年(1982)2月26日

発明の数 1
審査請求 未請求

// C 07 H 19/16

(全 11 頁)

⑭ 放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤

⑯ 発明者 中津川重一
京都市北区平野上柳町26番地の
41

⑰ 特 願 昭55—109320

⑰ 出 願 人 ヤマサ醤油株式会社
銚子市新生町2丁目10番地の1

⑱ 出 願 昭55(1980)8月11日

明 細 書

1. 発明の名称

放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤

2. 特許請求の範囲

3'-デオキシグアノシンまたは3'-デオキシウリジンを活性成分として含有してなる放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤に関するものである。

癌治療法については種々の方面から開発が進められてきているが、放射線療法についてもその一つの柱として治療成績の向上を図る方法が工夫されている。このような方法の一つとして、加速された重イオン粒子を照射したり、 π 中間子を用いる手段によつて物理的線量分布を向上させる方法がある。また、癌腫の中で最も放射線治療に抵抗する低酸素状態にある癌細胞の放射線に対する感

受性を低酸素細胞増感剤を利用して選択的に高めるといふ面からの開発も進みつつある。さらに別の方向として、他の抗腫瘍因子を利用する治療法、たとえば温熱療法あるいは化学療法などとの併用治療も試みられている。

しかし、物理的線量分布を向上させる方法では、その実施に必要な加速器や付属施設の建設に巨額の資金と多くの熟練した技術者、医師を必要とするし、他の方法にも正常組織に対する損傷が大きいなどの欠点が付随する。たとえば、低酸素細胞増感剤、ミソニダゾールは神経毒性を有するため大量投与が困難であり、臨床応用可能な濃度ではそれほど大きな放射線増感効果が期待できず、しかも日常治療に用いられる低線量域(200~1000 rad)での効果が小さいという問題点を有するのが実状である。

本発明者らは、低酸素状態にある放射線抵抗性の癌細胞が静止期にあることに注目し、静止期の細胞において特に著しい潜在的致死的損傷からの回復機能(potentially lethal damage repair、

以下「PLDR」と指称する。)を阻害することによる放射線増感の可能性を探ってきた。その中で3'-デオキシアデノシン(コルジセピン、以下「3'-dAdo」と略称する。)に優れたPLDR阻害能があることを知見した。しかし、3'-dAdoは生体内でアデノシンデアミナーゼにより容易に失活する。そこでアデノシンデアミナーゼ阻害剤、2'-デオキシコホルマイシンを併用することにより3'-dAdoのPLDR阻害能が増強延長されることも見い出された。しかし、2'-デオキシコホルマイシンが免疫能を障害するという報告もあり、また3'-dAdoも種々の副作用を有することから、3'-dAdoよりも安定で、より毒性が低く、効果的な放射線増感物質の出現が望まれる。

本発明者はかかる現状に鑑み、低毒性で、かつより安定なPLDR阻害活性を有する放射線増感剤を得べく鋭意研究を重ねてきた。その結果、3'-デオキシグアノシン(以下「3'-dGuo」と略称する。)が著しく低毒性であり、しかもすぐれたPLDR阻害能を有することを発見した。さら

療法における放射線の照射前もしくは後に投与される。放射線療法に関しては特に特別な方法、条件を採用する必要はなく、一般の放射線療法技術をそのまま適用すればよい。なお、放射線照射の線源としては、たとえばX線、リニアック高エネルギーX線、ベータトロン3.2 MeV電子線、 ^{60}Co γ 線など一般線源でよい。

また、本発明薬剤は、放射線類似作用物質効果増強剤として使用される場合は、放射線類似作用物質の投与と同時に、あるいはその前後に投与される。本発明において放射線類似作用物質とは、放射線と同時の作用機作で生理活性を発現し、その薬剤処理後にPLDRが観察されるものを意味し、その具体例としてはブレオマイシン、5-フルオロウリジンなどが挙げられる。放射線類似作用物質の投与量はそれぞれの薬剤における最適条件を採用すればよい。

本発明薬剤の投与方法は一般の全身投与方法もしくは局所投与方法によればよい。薬剤の投与単位形態としては治療目的、投与方法に応じて各種の形

に3'-デオキシウリジン(以下「3'-dUrd」と略称する。)が、毒性のない濃度で、臨床で日常使われる線量域(200~1000 rad)の放射線の静止期の細胞に対する殺細胞効果を著しく増強することを知見した。

本発明はこれらの知見に基づいて完成されたものである。すなわち、本発明は、3'-dGuoまたは3'-dUrdを活性成分として含有してなる放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤を提供するものである。

本発明薬剤の活性成分として使用される3'-dGuoおよび3'-dUrd自体は公知の化合物である。本発明においては、生体内で容易に3'-dGuoまたは3'-dUrdに変換されて最終的に3'-dGhoまたは3'-dUrdとして本発明の目的の効果を達成するものである限り、生体内における吸収、代謝、分布などに関する諸性質を改善する目的で化学的に修飾されたプロ・ドラッグ等のこれらの誘導体の使用も包含するものである。

本発明薬剤は、放射線増感剤としては、放射線

態を選択することができる。たとえば全身投与方法に使用する形態^{形態}としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、液剤等の経口剤形態、注射剤、坐剤等の非経口剤形態など、局所投与方法用形態としては、徐放性カプセル剤、軟膏剤、注射剤等の形態に製剤化すればよい。かかる投与単位形態に成形するに際しては、特に制約はなく、担体として薬学分野で使用されうるものが選択され、この分野で慣用されている調剤手段に従って調製される。また、本発明の目的に合った種々の調剤上の工夫も加えうる。

本発明薬剤の1日当りの投与量は、基礎効力実験から、一般的にはたとえば経口剤では1日当り20~3000 mg、注射剤では0.5~500 mg、坐剤では20~2000 mgであるのが望ましい。最適有効量は、放射線の種類、照射線量、放射線類似作用物質の種類、投与量、病状、患部などに応じて医師の判断により決定されるべきである。

本発明の薬剤の投与に際しては、3'-dGuoまたは3'-dUrd^を活性成分として含有するものを別個に

単独投与することもできるが、両者を併用することも考えられる。また、ミソニダゾールなどの他の増感剤、または化学療法剤との同一あるいは別個の投与単位形態での併用もないうる。

放射線増感剤としての使用に際しては、本発明薬剤の投与は、たとえば経口剤であれば放射線照射の約1～2時間前、注射剤であれば約15分前、坐剤であれば約30分前に行うことにより所期の目的を達しうる。ただし、 $3'$ -dGuoを活性成分として含有するものについては照射直後に投与することによつてより良好な効果を収めることができる。

次に本発明薬剤の薬理効果を放射線増感効果試験のデータをもつて示す。

試験例 1 細胞レベルにおける放射線増感効果

1) 2×10^5 個/ウェルのチャイニーズハムスターHA-1細胞をマルチウェルディッシュに植え、3日目より培地を毎日交換した上で得た定常期の細胞にX線を1000R照射し、照射直後に $3'$ -dUrdまたは $3'$ -dGuoを投与し、その

後各時間を置いてからトリプシンで細胞をはがし、適当数の細胞をペトリ皿に植えてコロニー形成能を調べ、生存率を薬剤単独処理群のコロニー形成能で補正して算出した。その結果を第1表に示す。

第1表 チャイニーズハムスターHA-1細胞における薬剤の放射線増感効果

| 薬剤 | 処理濃度 $\mu\text{g/ml}$ | コロニー形成能 (%) | | | | |
|------------|--------------------------|-------------|--------|--------|--------|-------------|
| | | 照射直後 | 照射1時間後 | 照射4時間後 | 照射7時間後 | 薬剤単独 処理群 |
| $3'$ -dGuo | 0 | 0.55 | 1.4 | 2.1 | 3.8 | 50.6 |
| | 10 | | 1.8 | 1.6 | 2.6 | 50 |
| | 20 | | 1.2 | 1.3 | 2.0 | 47 |
| | 40 | | 0.96 | 1.1 | 1.6 | 45 |
| $3'$ -dUrd | | 照射直後 | 照射3時間後 | 照射6時間後 | 照射9時間後 | 薬剤単独 処理群 |
| | 0 | 0.85 | 1.8 | 2.4 | 3.8 | 66 |
| | 84 | | 1.6 | 2.2 | 3.5 | 65 |
| | 68 | | 1.2 | 1.9 | 3.1 | 60 |
| | 136 | | 0.9 | 1.6 | 2.6 | 58 |

第1表から明らかなように、 $3'$ -dGuo、 $3'$ -dUrdはそれぞれX線照射後の修復(FLDR)を阻害した。コロニー形成能によつて調べた毒性もほとんど認められなかった。

2) 1)と同様にして得た定常期のHA-1細胞に各線量(200～800R)のX線を照射し、細胞のコロニー形成能に及ぼす薬剤の影響をみた。薬剤処理は照射30分前に行なつた。またコロニー形成能の測定はX線照射直後の細胞について行なつた。その結果を第2表に示す。

第2表 HA-1細胞のX線生存率に及ぼす薬剤の効果

| 薬剤 | 処理濃度 $\mu\text{g/ml}$ | X線照射群の生存率 (%) | | | | X線非照射群の コロニー形成能 (%) |
|------------|--------------------------|---------------|------|------|------|------------------------|
| | | 200R | 400R | 600R | 800R | |
| $3'$ -dUrd | 0 | 88 | 27 | 5.9 | 1.9 | 90 |
| | 100 | 45 | 19 | 5.2 | 1.8 | 85 |
| | 200 | 39 | 15 | 4.9 | 1.8 | 87 |
| | 400 | 30 | 18 | 3.8 | 1.2 | 85 |
| | 800 | 29 | 18 | 3.8 | 1.0 | 80 |

第2表から明らかなように $3'$ -dUrdは特に低線量のX線照射時に増感効果を示した。

試験例 2 マウス実験腫瘍レベルにおける放射線増感効果

EMT-6腫瘍細胞を 2×10^5 個BALB/c系雌マウス(8週令、一群6匹以上)の右太腿皮内に接種した。腫瘍細胞接種後、腫瘍サイズが6～7mm径に達した時に1500rad/minで電子線を照射し、その後生理食塩水に溶解させた $3'$ -dGuoを2.0mg/マウスあて腹腔内投与した。 $3'$ -dUrdについては照射30分前に0.8mg/マウスを腹腔内投与した。以上の処理後28日間隔日または毎日三軸方向直径で腫瘍サイズを計測し、次の項目について対照群と比較した。

$$1) \text{ 腫瘍平均直径} = \frac{(\text{最大縦径} + \text{最大横径} + \text{最大高さ(径)})}{3}$$

$$2) \text{ 直径比} = \frac{\text{腫瘍平均直径}}{\text{照射時腫瘍平均直径}}$$

$$3) \text{ 体積比} = (\text{直径比})^3$$

その結果を第3表および第4表に示す。なお、

観察期間中に腫瘍が完全に消失したものを治癒例とする。

第4表 EMT-6腫瘍のX線照射に及ぼす薬剤の増感効果

| 処 理 | 治 癒 例 | 治癒例を除く 体積比0.5未満 腫瘍縮小率 大 | 同じく体積比 0.5～1.0未満 腫瘍縮小率 小 | 同じく体積比 1.0～2.0未満 再 増 殖 小 | 同じく体積比 2.0以上 再 増 殖 大 |
|---------------------|-----------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| 照射(1500 R)単独 | 1/10(10%) | 0/10(0%) | 0/10(0%) | 3/10(30%) | 6/10(60%) |
| 8-dUrd(0.8mg/kg)+照射 | 8/7(43%) | 1/7(14%) | 0/7(0%) | 2/7(29%) | 1/7(14%) |
| 照射+8-dGuo(2.0mg/kg) | 6/19(32%) | 2/19(11%) | 3/19(18%) | 6/19(32%) | 2/19(11%) |

第3表 EMT-6腫瘍のX線治療に及ぼす薬剤の増感効果

| 処 理 | 照射時の 腫瘍平均直径 mm | 処置後2週間目 | | 処置後8週間目 | |
|-------------------------------|----------------------|--------------|-----------|------------------------|-----------|
| | | 腫瘍平均直径 mm | 直径比 | 腫瘍平均直径 mm | 直径比 |
| 照射(1500 R)単独 (n=10) | 68.0±3.05 | 74.1±5.11 | 1.09±0.07 | 82.9±8.80 | 1.17±0.18 |
| 8-dUrd(40mg/kg)+照射 (n=7) | 60.0±4.11 | 68.1±9.65 | 1.06±0.15 | 42.9±17.3 ⁴ | 0.66±0.25 |
| 照射+8-dGuo(100mg/kg) (n=19) | 61.9±1.57 | 68.2±4.86 | 1.09±0.06 | 48.9±8.08 | 0.72±0.12 |
| | | | | | 2.06±0.30 |
| | | | | | 1.21±0.60 |
| | | | | | 0.92±0.21 |

以上のように8-dGuo および8-dUrd は、8-dAdo と同様に放射線増感効果を有することが明らかであり、しかも8-dAdo に比べて毒性が低いという利点を有する。

特 許 出 願 人 (6 7 7) ヤ マ サ 醬 油 株 式 会 社

手続補正書（自発）

昭和 55 年 4 月 1 日

特許庁長官 島田 春樹 殿

1. 事件の表示

昭和 55 年特許願第 109820 号

2. 発明の名称

放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 郵便番号 288

千葉県銚子市新生町 2 丁目 10 番地の 1

名称 (667) ヤマサ醤油株式会社

代表者 濱口 徹 兵衛

4. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

5. 補正の内容

- 1) 明細書第 5 頁第 12 行目の「同時」を「同様」に訂正する。

／c 系雌マウス（7 週令、一群 9 匹以上）の右太腿皮内に接種した。腫瘍細胞接種 10 日後から各薬剤の生理食塩水溶液をそれぞれ各薬用量で腹腔内に隔日投与した。薬剤処理後 18 日目に腫瘍サイズを計測して対照群と比較した。その結果を第 5 表に示す。

第 5 表 EMT-6 腫瘍の化学療法に及ぼす

薬剤の増強効果

| 処 置 | 薬剤投与開始時の腫瘍平均直径 mm×10 | 処置開始後 18 日目 | |
|---|-------------------------|-----------------|------------|
| | | 腫瘍平均直径 mm×10 | 直径比 |
| 対 照 (n=10) | 58.0±18.6 | 114.8±28.0 | 1.97±0.897 |
| 3-dGuo (50mg/kg×6) 単独投与 (n=10) | 67.5±12.0 | 109.2±32.3 | 1.62±0.479 |
| ブレオマイシン (25mg/kg ×4) 単独投与 (n=10) | 61.2±11.7 | 97.7±25.0 | 1.60±0.408 |
| ブレオマイシン (25mg/kg ×4) + 3-Guo (50mg/kg×4) 併用投与 (n=10) | 66.5±9.6 | 56.0±16.7 | 0.84±0.251 |
| FT-207 (100mg/kg ×6) 単独投与 (n=9) | 69.6±14.3 | 88.7±21.2 | 1.20±0.805 |
| FT-207 (100mg/kg×6) + 3-Guo (50mg/kg×6) 併用投与 (n=11) | 63.9±9.4 | 31.8±23.8 | 0.50±0.372 |

特開昭 57- 35516 (5)

- 2) 明細書第 5 頁第 15 行目の「ウリジン」の次に「、1-(2-テトラヒドロフリル)-5-フルオロウラシル（以下、「FT-207」と略称する。）」を加入する。

- 3) 明細書第 7 頁第 14 行目の「験」の次に「および放射線類似作用物質効果増強効果試験」を加入する。

- 4) 明細書第 10 頁第 10 行目および第 12 行目の「復腔内」を「腹腔内」に訂正する。

- 5) 明細書第 12 頁の第 3 表中の「照射時の腫瘍平均直径」、「処置後 2 週間目」の「腫瘍平均直径」および「処置後 3 週間目」の「腫瘍平均直径」の項目欄の「mm」を「mm×10」に訂正する。

- 6) 明細書第 18 頁の「試験例 2」の末尾に続けて「試験例 3」として次文を加入する。

「試験例 3 マウス実験腫瘍レベルにおける放射線類似作用物質効果増強効果

EMT-6 腫瘍細胞を 1×10^6 個 BALB

- 7) 明細書第 14 頁第 2 行目の「放射線増感効果」の次に「および放射線類似作用効果増強効果」を加入する。

昭和56年10月31日

特許庁長官 島田 春樹 殿

1. 事件の表示

昭和55年特許願第109320号

2. 発明の名称

新) 抗腫瘍効果増強剤

旧) 放射線増感剤もしくは放射線類似作用物質効果増強剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 郵便番号 288

千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1

名称 (677) ヤマサ醤油株式会社

代表者 濱口 儀兵衛

4. 補正の対称

願書の発明の名称の欄および明細書全文

5. 補正の内容

i) 願書の発明の名称の欄の記載を「抗腫瘍効果増強剤」に訂正する。

明 細 書

1. 発明の名称

抗腫瘍効果増強剤

2. 特許請求の範囲

3'-デオキシグアノシンまたは3'-デオキシウリジンを活性成分として含有してなる抗腫瘍効果増強剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、抗腫瘍効果増強剤に関するものである。

癌治療法については種々の方面から開発が進められてきているが、放射線療法についてもその一つの柱として治療成績の向上を図る方法が工夫されている。このような方法の一つとして、加速された重イオン粒子を照射したり、 π 中間子を用いる手段によつて物理的線量分布を向上させる方法がある。また、癌腫の中で最も放射線治療に抵抗する低酸素状態にある癌細胞の放射線に対する感受性を低酸素細胞増感剤を利用して選択的に高め

「増強剤」に訂正する。

2) 明細書の全文を別紙のており訂正する。

るという面からの開発も進みつつある。さらに別の方向として、他の抗腫瘍因子を利用する治療法、たとえば温熱療法あるいは化学療法などとの併用治療も試みられている。

しかし、物理的線量分布を向上させる方法では、その実施に必要な加速器や付属施設の建設に巨額の資金と多くの熟練した技術者および医師を必要とするし、他の方法にも正常組織に対する損傷が大きいなどの欠点が付随する。たとえば、低酸素細胞増感剤であるミソニダゾールは神経毒性を有するため大量投与が困難であり、臨床応用可能な濃度ではそれほど大きな放射線増感効果が期待できず、しかも日常治療に用いられる低線量域（200～1000 rad）での効果が小さいという問題点を有するのが実状である。

本発明者は、低酸素状態にある放射線抵抗性の癌細胞が静止期にあることに注目し、静止期の細胞において特に著しい潜在的致命的損傷からの回復機能（potentially lethal damage repair、以下「PLDR」と指称する。）を阻害することに

よる放射線増感の可能性を探ってきた。その中で3'-デオキシアデノシン(コルジセピン、以下「3'-dAdo」と略称する。)に優れたPLDR阻害能があることを確認した。しかし、3'-dAdoは生体内でアデノシンデアミナーゼにより容易に失活する。そこでアデノシンデアミナーゼ阻害剤である2'-デオキシコホルマイシンを併用することにより3'-dAdoのPLDR阻害能が増強延長されることが本発明者によつて見い出された。しかし、2'-デオキシコホルマイシンが免疫能を障害するという報告もあり、また3'-dAdoも種々の副作用を有することから、3'-dAdoよりも安定で、より毒性が低く、効果的な放射線増感物質の出現が望まれる。

一方、癌の化学療法の分野において、抗腫瘍剤の多剤併用療法が次のような目的効果のもとに行なわれている。

- 1) アルキル化剤、代謝拮抗剤、抗生物質およびアルカロイドのうち、互いに交叉耐性を示さず、作用機序の異なつたものを多種類併用すること

ることができる。

このような多剤併用療法によつて単独の抗腫瘍剤の使用では得られなかつた効果をおさめることができるようになってきている。しかし、ここで併用される薬剤はそれぞれ単独で抗腫瘍剤として用いられているものであつた。

また、それ自体では抗腫瘍効果を有しない化合物を、抗腫瘍剤が生体内で分解して不活性化することを防止し、抗腫瘍剤の効果を増強する目的で抗腫瘍剤と併用する方法も種々試みられている。たとえば、1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(以下「araC」と略称する)にシチジンまたはウリジンを併用する方法(特開昭55-24150号公報)、シチジンデアミナーゼ阻害剤であるテトラヒドロウリジンをaraCと併用する方法(キャンサー・リサーチ(Cancer Research) Vol. 80、p 2166~2172(1970))、さらに5-フルオロウラシル(以下「5-FU」と略称する)およびその誘導体に対してピリジン化合物たとえばウラシル、シトシン、チミン、オロ

により、各種薬剤に対する感受性の異なる腫瘍細胞の混在する癌に対して相加的または相乗的に制癌効果を高めることができる。

- 2) アトランダムに分裂増殖している癌細胞を攻撃するために、細胞周期に対する作用点の異なる抗腫瘍剤を併用することにより、癌細胞の細胞周期の各時期を多角的に攻撃することができ、癌細胞をより確実に致死に追いやることのできる。
- 3) 作用機序の全く異なる薬剤ばかりでなく、作用機序が比較的似ている薬剤を用いることにより、相乗効果を期待することができる。たとえばDNA合成に関与している一連の過程をそれぞれブロックする多種類の薬剤を併用することにより、強い相乗効果を発揮することができる。
- 4) 各種抗腫瘍剤はそれぞれ特徴ある副作用を有している。そこで副作用の種類の異なる薬剤をそれぞれの副作用の発現をみる限度以下の用量で併用し、副作用の分散を図りながら、制癌作用については相加的または相乗的効果を期待す

ット酸、5-ブロモウラシル、5-ヨードウラシル、1-アセチルウラシル、1-(2-テトラヒドロフリル)-ウラシル、3-ベンゾイルウラシル、1-シクロヘキシルカルバモイルウラシル、1-n-ヘキシルカルバモイルウラシル、ウリジン、2'-デオキシウリジン、5-ブロモ-2'-デオキシウリジン、シチジン、2'-デオキシシチジンなどを併用する方法が知られている。

ブレオマイシン(以下「BLM」と略称する)や5-FUなどの化学療法剤についても放射線の場合と同様なPLDRが認められている(ジャーナル・オブ・ザ・ナショナル・キャンサー・インスティテュート(Journal of the National Cancer Institute) Vol. 50、No. 2、p 529~533(1978))。

本発明者は、かかる現状に鑑み、低毒性でかつより安定なPLDR阻害活性を有する放射線増感剤を得るべく鋭意研究を重ねてきた。その結果、7-フルオロシトシン(以下「3'-dGuo」と略称する)、3'-dAdo以外の3'-デオキシフルオロシトシン(以下「3'-dUrd」と略称する)および3'-デオキシフルオロシトシンがすぐれた放射線増

感作用を有することを発見した。そして、さらにこれら 3'-^{dGuo} および 3'-^{dUrd} は化学療法剤による悪性腫瘍の治療においてもすぐれた抗腫瘍効果増強作用を発揮することを知見し、本発明を完成したものである。すなわち、本発明は、放射線および／または抗腫瘍剤による悪性腫瘍の治療の場においてこれら 3'-^{dGuo} または 3'-^{dUrd} を活性成分として含有する薬剤の抗腫瘍効果を増強するために使用される薬剤を提供するものである。

本発明薬剤は、放射線療法または抗腫瘍剤療法の適用対象となる悪性腫瘍の治療の場において、これらの治療処置と併行して抗腫瘍効果を高める目的をもって使用される。

放射線療法の治療効果を高める目的で本発明薬剤を放射線増感剤として使用する場合には、放射線療法における放射線の照射前もしくは照射後あるいは事情が許せば照射中に投与する。放射線療法自体に関しては特に特別な方法、条件を採用する必要はなく、一般の放射線療法技術をそのまま適用すればよい。本発明薬剤の併用により、従来

フルオロ-5'-デオキシウリジンなど)、araC およびその誘導体(サイクロシチジン、N⁴-バロミトイル araC、N⁴-ステアロイル araC、N⁴-ベヘノイル araC、araC-5'-りん酸ステアリルエステル、araC-5'-りん酸オレイルエステルなど)など、抗腫瘍性抗生物質として、BLM、ネオカルチドスタチン、アントラサイクリン系抗生物質(ダウノマイシン、アドリアマイシン(以下「ADM」と略称する)、アクラシノマイシンなど)など、アルキル化剤として、ACNU、BCNU、CCNU、MCCNUなどのニトロソウレア、8'-(3-(2-クロロエチル)-8'-ニトロソウレイド)-3'-デオキシチミジン、8'-(3-メチル-8'-ニトロソウレイド)-8'-デオキシチミジンなどが挙げられる。抗腫瘍剤の投与方法、投与量は、本発明薬剤の併用にあたって特に特殊な条件を設定する必要はなく、それぞれの薬剤における最適条件を適宜に採用すればよい。また、抗腫瘍剤の投与と放射線の照射を併用する悪性腫瘍の治療に際して、本発明薬剤を使用することもできる。

より低線量域での放射線療法が可能となった。なお、放射線照射の線源としては、たとえばX線、リニアック高エネルギーX線、ベータトロン32 MeV電子線、⁶⁰Coγ線など一般線源でよい。

抗腫瘍剤による化学療法における抗腫瘍効果を増強する目的で使用する場合には、抗腫瘍剤の投与と同時に、あるいはその前後に投与する。本発明薬剤による効果増強対象とされる抗腫瘍剤としては、放射線類似作用物質をはじめPLDRが認められるものなど各種のものが例示される。たとえば、代謝拮抗剤として、メソトレキセート、6-メルカプトプリン、5-FUおよびその誘導体(5-フルオロウリジン、5-フルオロ-2'-デオキシウリジン、1-β-D-アラビノフラノシル-5-フルオロシトシン、1-(2-テトラヒドロフリル)-5-フルオロウラシル(以下、「FT-207」と略称する)、1-(n-ヘキシルカルバモイル)-5-フルオロウラシル、1-エトキシメチル-5-フルオロウラシル、1-エトキシカルボニル-5-フルオロウラシル、5-

本発明薬剤の投与方法は一般の全身投与方法もしくは局所投与方法によればよい。薬剤の投与単位形態としては治療目的、投与方法に応じて各種の形態を選択することができる。たとえば全身投与方法に使用する形態としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、液剤等の経口剤形態、注射剤、坐剤等の非経口剤形態など、局所投与方法用形態としては、徐放性カプセル剤、軟膏剤、注射剤等の形態に製剤化することができる。かかる投与単位形態に成形するに際しては、担体として薬学分野で使用されるものを選択し、公知の調剤手段に従って調製すればよい。また、本発明の目的に適合する種々の調剤上の工夫も加えうる。さらに、抗腫瘍剤の効果増強剤の一つの態様として、併用される抗腫瘍剤と本発明薬剤の活性成分とを配合して同一の投与単位形態の配合剤として調製することもできる。この場合の各成分の配合比は、それぞれの種類に応じて定めればよい。

本発明薬剤は、抗腫瘍活性の増強に有効な量で用いられる。具体的には、本発明薬剤の1日当り

の投与量は活性成分の種類によつて多少相違するが、基礎効力実験から、一般的にはたとえば経口剤では1日当り20～3000mg、注射剤では0.5～500mg、坐剤では20～2000mgであるのが望ましい。最適有効量は、放射線の種類、照射線量、抗腫瘍剤の種類、投与量、病状、患部などに応じて医師の判断により決定されるべきである。

なお、本発明薬剤の活性成分として使用される3'-dGuo および3'-Urd自体は公知の化合物である。本発明においては、生体内で容易に3'-dGuo または3'-dUrd に変換されて最終的に3'-dGuo または3'-dUrd として本発明の目的の効果を達成するものである限り、生体内における吸収、代謝、分布などに関する諸性質を改善する目的で化学的に修飾されたプロ・ドラッグ等のこれらの誘導体の使用も包含するものである。

本発明薬剤の投与に際しては、3'-dGuo または3'-dUrd を活性成分として含有するものを別個に単独投与することもできるが、両者を併用す

ることも考えられる。また、ミソニダゾールなどの他の放射線増感剤、抗腫瘍効果増強剤との同一あるいは別個の投与単位形態での併用も可能である。

次に本発明薬剤の薬理効果を放射線増感効果および抗腫瘍剤効果増強効果の試験データをもつて示す。

試験例 1 細胞レベルにおける放射線増感効果

1) 2×10^5 個/ウエルのチャイニーズハムスターH A - 1細胞をマルチウエルディッシュに植え、8日目より培地を毎日交換した上で得た定常期の細胞にX線を1000R照射し、照射直後に3'-dUrd、3'-dGuoを投与し、その後各時間を置いてからトリプシンで細胞をはがし、適当数の細胞をペトリ皿に植えてコロニー形成能を調べ、生存率を薬剤単独処理群のコロニー形成能で補正して算出した。その結果を第1表に示す。

第1表 チャイニーズハムスターH A - 1細胞における薬剤の放射線増加効果

| 薬剤 | 処理濃度 $\mu\text{g}/\text{ml}$ | コロニー形成能(%) | | | | |
|---------|---------------------------------|------------|--------|--------|--------|---------|
| | | 照射直後 | 照射1時間後 | 照射4時間後 | 照射7時間後 | 薬剤単独処理群 |
| 3'-dGuo | 0 | 0.55 | 1.4 | 2.1 | 3.3 | 50.6 |
| | 10 | | 1.3 | 1.6 | 2.6 | 50 |
| | 20 | | 1.2 | 1.3 | 2.0 | 47 |
| | 40 | | 0.96 | 1.1 | 1.6 | 45 |
| 3'-dUrd | 0 | 照射直後 | 照射3時間後 | 照射6時間後 | 照射9時間後 | 薬剤単独処理群 |
| | 150 | 0.35 | 1.8 | 2.4 | 3.8 | 66 |
| | 300 | | 1.6 | 2.2 | 3.5 | 65 |
| | 300 | | 1.2 | 1.9 | 3.1 | 60 |
| | 600 | | 0.9 | 1.6 | 2.6 | 58 |

第1表から明らかなように、3'-dGuo、3'-dUrdはそれぞれX線照射後の修復(PLDR)を阻害した。コロニー形成能によつて調べた毒性もほとんど認められなかった。

2) 1)と同様にして得た定常期のH A - 1細胞に各線量(200～800R)のX線を照射し、

細胞のコロニー形成能に及ぼす薬剤の影響をみた。薬剤処理は照射30分前に行なつた。またコロニー形成能の測定はX線照射直後の細胞について行なつた。その結果を第2表に示す。

第2表 H A - 1細胞のX線生存率に及ぼす薬剤の効果

| 薬剤 | 処理濃度 $\mu\text{g}/\text{ml}$ | X線照射群の生存率(%) | | | | X線非照射群の コロニー形成能(%) |
|---------|---------------------------------|--------------|------|------|------|-----------------------|
| | | 200R | 400R | 600R | 800R | |
| 3'-dUrd | 0 | 88 | 27 | 5.9 | 1.9 | 90 |
| | 100 | 45 | 19 | 5.2 | 1.8 | 85 |
| | 200 | 39 | 15 | 4.9 | 1.8 | 87 |
| | 400 | 30 | 13 | 3.8 | 1.2 | 85 |
| | 800 | 29 | 13 | 3.8 | 1.0 | 80 |

第2表から明らかなように3'-dUrdは特に低線量のX線照射時に増感効果を示した。

試験例 2 マウス実験腫瘍レベルにおける放射線増感効果

E M T - 6腫瘍細胞を 2×10^6 個BALB/c系雌マウス(8週令、一群6匹以上)の右大腿皮

内に接種した。腫瘍細胞接種後、腫瘍サイズが6～7 mm 径に達した時に1500 rad / min で電子線を照射し、その後生理食塩水に溶解させた3'-dGuo を2.0 mg / マウス あて腹腔内投与した。3'-dUrd については照射80分前に0.8 mg / マウスを腹腔内投与した。以上の処理後28日間隔日または毎日三軸方向直径で腫瘍サイズを計測し、次の項目について対照群と比較した。

$$1) \text{ 腫瘍平均直径} = \frac{(\text{最大縦径} + \text{最大横径} + \text{最大高さ(径)})}{3}$$

$$2) \text{ 直径比} = \frac{\text{腫瘍平均直径}}{\text{照射時腫瘍平均直径}}$$

$$3) \text{ 体積比} = (\text{直径比})^3$$

その結果を第3表および第4表に示す。なお、観察期間中に腫瘍が完全に消失したものを治癒例とする。

試験例 3 マウス実験腫瘍レベルにおける放射線増感効果

EMT-6 腫瘍細胞 2×10^5 個をBALB/c 系雌マウス(8週令)の右腿皮内に接種した。腫瘍細胞接種後、腫瘍サイズが5.5～8.0 mm 径に達したときに1000 rad から2700 rad / min の電子線を照射し、その後生理食塩水に溶解させた3'-dAdo、3'-dGuo を100 mg / kg あて腹腔内に投与した。処理後90日以上観察し、治癒率を求めて対照群と比較した。

$$1) \text{ 治癒率} = \left(\frac{\text{90日目の治癒例数}}{\text{照射時マウス匹数}} \right) \times 100$$

$$2) \text{ TCD}_{50} = 50\% \text{ 腫瘍治癒量}$$

実験結果を第5表に示す。

第3表 EMT-6 腫瘍のX線治療に及ぼす薬剤の増感効果

| 処 置 | 照射時の 腫瘍平均直径 mm | 処置後2週間目 | | | 処置後3週間目 | | |
|--------------------------------|----------------------|--------------|-----------|-----------|--------------|-----------|-----------|
| | | 腫瘍平均直径 mm | 直径比 | 体積比 | 腫瘍平均直径 mm | 直径比 | 体積比 |
| 照射(1500 rad)単独 (n=10) | 6.80±0.31 | 7.41±0.51 | 1.09±0.07 | 1.44±0.23 | 8.29±0.83 | 1.17±0.13 | 2.06±0.30 |
| 3'-dUrd(40mg/kg)+照射 (n=7) | 6.00±0.41 | 6.31±0.97 | 1.06±0.15 | 1.63±0.44 | 4.29±1.73 | 0.66±0.25 | 1.21±0.60 |
| 照射+3'-dGuo(100mg/kg) (n=19) | 6.19±0.16 | 6.82±0.44 | 1.09±0.06 | 1.49±0.19 | 4.83±0.80 | 0.72±0.12 | 0.92±0.21 |

第4表 EMT-6 腫瘍のX線照射に及ぼす薬剤の増感効果

| 処 理 | 治 癒 例 | 治癒例を除く 体積比0.5未満 腫瘍縮小率 大 | 同じく体積比 0.5～1.0未満 腫瘍縮小率 小 | 同じく体積比 1.0～2.0未満 再増殖 小 | 同じく体積比 2.0以上 再増殖 大 |
|-----------------------|-----------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | | 腫瘍縮小率 大 | 腫瘍縮小率 小 | 再増殖 小 | 再増殖 大 |
| 照射(1500 rad)単独 | 1/10(10%) | 0/10(0%) | 0/10(0%) | 3/10(30%) | 6/10(60%) |
| 3'-dUrd(-0.8mg/kg)+照射 | 8/7(43%) | 1/7(14%) | 0/7(0%) | 2/7(29%) | 1/7(14%) |
| 照射+3'-dGuo(20mg/kg) | 6/19(32%) | 2/19(11%) | 3/19(18%) | 6/19(32%) | 2/19(11%) |

第5表 EMT-6腫瘍のX線治療に及ぼす薬剤の増感効果

| 処置 | 治療例 / 処置数 (%) | | | | TCD ₅₀ (比) |
|---------|---------------|------------|------------|-------------|-----------------------|
| | 1000rad | 1500rad | 2100rad | 2700rad | |
| 対 照 | 1/23 (4%) | 8/44 (18%) | 9/24 (38%) | 13/28 (47%) | 2400(1.0) |
| 8'-dAdo | 3/18 (17) | 14/29 (48) | 11/14 (79) | 10/15 (67) | 1600(0.67) |
| 8'-dGuo | 8/26 (31) | 21/29 (72) | 22/28 (79) | 22/25 (88) | 1250(0.52) |

試験例 4 マウス実験腫瘍レベルにおける抗腫瘍剤効果増強効果

1) EMT-6腫瘍細胞を 1×10^6 個 BALB/c 系雌マウス (7週令) の右太腿皮内に接種した。腫瘍細胞接種後10日目から各薬剤の生理食塩水溶液をそれぞれ各薬用量で腹腔内に隔日投与した。なお、本発明薬剤の投与は抗腫瘍剤の投与30分後に行なつた。薬剤処理開始後1日おきに腫瘍サイズを計測して対照群と比較した。その結果を第6表～第7表に示す。

第7表

| 抗腫瘍剤 処置 | 本発明薬剤 処置 | 平均腫瘍直径mm (比) | | |
|---------------------------------|--------------------------|--------------|------------------------------|------------------------------|
| | | 処置開始直前 | 処置開始 7日後 | 処置開始 14日後 |
| 対 照 (n=6) | — | 6.00 ± 0.89 | 7.88 ± 0.69 (1.27 ± 0.17) | 9.20 ± 1.78 (1.57 ± 0.40) |
| — (n=6) | 8'-dGuo (50mg/kg × 8) | 6.08 ± 0.69 | 7.45 ± 2.07 (1.21 ± 0.24) | 9.10 ± 2.65 (1.48 ± 0.30) |
| ara C (50mg/kg × 8) (n=7) | — | 6.11 ± 0.78 | 7.11 ± 1.48 (1.16 ± 0.18) | 8.07 ± 2.62 (1.38 ± 0.46) |
| ara C (50mg/kg × 8) (n=7) | 8'-dGuo (50mg/kg × 8) | 6.04 ± 0.64 | 5.96 ± 1.77 (0.97 ± 0.19) | 5.34 ± 1.57 (0.88 ± 0.21) |
| ACNU (25mg/kg × 5) (n=7) | — | 6.23 ± 0.76 | 5.51 ± 1.91 (0.87 ± 0.21) | 6.54 ± 1.82 (1.06 ± 0.29) |
| ACNU (25mg/kg × 5) (n=7) | 8'-dGuo (50mg/kg × 5) | 6.23 ± 1.04 | 5.14 ± 2.29 (0.80 ± 0.22) | 4.90 ± 1.94 (0.76 ± 0.19) |
| ADM (2mg/kg × 8) (n=10) | — | 6.72 ± 1.00 | 7.67 ± 1.80 (1.17 ± 0.29) | 9.04 ± 1.77 (1.88 ± 0.86) |
| ADM (2mg/kg × 8) (n=10) | 8'-dGuo (50mg/kg × 8) | 6.59 ± 1.14 | 6.16 ± 2.00 (0.92 ± 0.18) | 6.80 ± 2.54 (0.94 ± 0.81) |

第6表 EMT-6腫瘍の化学療法に及ぼす薬剤の増強効果

| 抗腫瘍剤 処置 | 本発明薬剤 処置 | 平均腫瘍直径mm (比) | |
|------------------------------------|--------------------------|--------------|-------------------------------|
| | | 処置開始直前 | 処置開始 18日後 |
| 対 照 (n=10) | — | 5.80 ± 1.86 | 11.48 ± 2.30 (1.97 ± 0.40) |
| — (n=10) | 8'-dGuo (50mg/kg × 6) | 6.75 ± 1.20 | 10.92 ± 3.28 (1.62 ± 0.48) |
| B.L.M. (25mg/kg × 4) (n=10) | — | 6.12 ± 1.17 | 9.77 ± 2.50 (1.60 ± 0.41) |
| B.L.M. (25mg/kg × 4) (n=10) | 8'-dGuo (50mg/kg × 4) | 6.65 ± 0.96 | 5.60 ± 1.67 (0.84 ± 0.25) |
| FT-207 (100mg/kg × 6) (n=9) | — | 6.96 ± 1.43 | 8.87 ± 2.12 (1.20 ± 0.31) |
| FT-207 (100mg/kg × 6) (n=11) | 8'-dGuo (50mg/kg × 6) | 6.89 ± 0.94 | 8.18 ± 2.88 (0.50 ± 0.87) |

試験例 5 急性毒性試験

ICRマウス (雄、8週令、1群10匹) に 8'-dGuoをそれぞれ500mg/kgまたは1000mg/kgあて腹腔内投与し、1週間観察した。

その結果、8'-dGuoのLD₅₀は1000mg/kg以上と推定された。なお、8'-dAdoのLD₅₀ (i.p.) は280mg/kg (241.4 ~ 324.8mg/kg: 95%信頼限界) であった。

特許出願人 (677) ヤマサ醤油株式会社